

ANALISIS TOKSIKOLOGI FORENSIK DAN INTERPRETASI TEMUAN ANALISIS*

* Made Agus Gelgel Wirasuta^{1,2}

* Jurusan Farmasi, FMIPA-Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Bali

** Lembaga Forensik Sains dan Kriminologi Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Bali

ABSTRAC

Forensic toxicology is application of analytical chemistry to detect, identify and determine foreign chemicals and its metabolites in the body as legal evidences, and then make interpretation or a testimony in establishing the cause of intoxication/death-cases. Step of analytical forensic (clinic) toxicology are: 1) sample preparation, 2) screening and determination test, 3) writing the interpretation of analytical finding into a testimony. The result of screening test can be used as guidance that a person has been used drugs, and the result of the determination test is a valid evidence for the interpretation and writing a testimony.

Kata Kunci: Analytical toxicology forensic

Pendahuluan

Toksikologi forensik adalah salah satu dari cabang ilmu forensik. Menurut *Saferstein* yang dimaksud dengan *Forensic Science* adalah "the application of science to law", maka secara umum ilmu forensik (forensik sains) dapat dimengerti sebagai aplikasi atau pemanfaatan ilmu pengetahuan tertentu untuk penegakan hukum dan peradilan. Guna lebih memahami pengertian dan ruang lingkup kerja toksikologi forensik, maka akan lebih baik sebelumnya jika lebih mengenal apa itu bidang ilmu toksikologi. Ilmu toksikologi adalah ilmu yang menelaah tentang kerja dan efek berbahaya zat kimia atau racun terhadap mekanisme biologis suatu organisme. Racun adalah senyawa yang berpotensi memberikan efek yang berbahaya terhadap organisme. Sifat racun dari suatu senyawa ditentukan oleh: dosis, konsentrasi racun di reseptor, sifat fisiko kimia toksikan tersebut, kondisi bioorganisme atau sistem bioorganisme, paparan terhadap organisme dan bentuk efek yang ditimbulkan. Toksikologi forensik menitikberatkan diri pada aplikasi atau pemanfaatan ilmu toksikologi untuk kepentingan peradilan. Kerja utama dari toksikologi forensik

adalah melakukan analisis kualitatif maupun kuantitatif dari racun dari bukti fisik dan menerjemahkan temuan analisisnya ke dalam ungkapan apakah ada atau tidaknya racun yang terlibat dalam tindak kriminal, yang dituduhkan, sebagai bukti dalam tindak kriminal (forensik) di pengadilan. Hasil analisis dan interpretasi temuan analisisnya ini akan dimuat ke dalam suatu laporan yang sesuai dengan hukum dan perundang-undangan. Menurut Hukum Acara Pidana (KUHP), laporan ini dapat disebut dengan Surat Keterangan Ahli atau Surat Keterangan. Jadi toksikologi forensik dapat dimengerti sebagai pemanfaatan ilmu toksikologi untuk keperluan penegakan hukum dan peradilan. Toksikologi forensik merupakan ilmu terapan yang dalam praktiknya sangat didukung oleh berbagai bidang ilmu dasar lainnya, seperti kimia analisis, biokimia, kimia instrumentasi, farmakologi-toksikologi, farmakokinetik, biotransformasi.

* Makalah disampaikan pada "Workshop Analisis Toksikologi Forensik, BPOM-Jakarta, 7-8 Desember 2005

Secara umum tugas toksikolog forensik adalah membantu penegak hukum khususnya dalam

melakukan analisis racun baik kualitatif maupun kuantitatif dan kemudian menerjemahkan hasil analisis ke dalam suatu laporan (surat, surat keterangan ahli atau saksi ahli), sebagai bukti dalam tindak kriminal (forensik) di pengadilan. Lebih jelasnya toksikologi forensik mencakup terapan ilmu alam dalam analisis racun sebagai bukti dalam tindak kriminal, dengan tujuan mendeteksi dan mengidentifikasi konsentrasi dari zat racun dan metabolitnya dari cairan biologis dan akhirnya menginterpretasikan temuan analisis dalam suatu argumentasi tentang penyebab keracunan dari suatu kasus. Menurut masyarakat toksikologi forensik amerika "*society of forensic toxicologist, inc. SOFT*" bidang kerja toksikologi forensik meliputi:

- analisis dan mengevaluasi racun penyebab kematian,
- analisis ada/tidaknya alkohol, obat terlarang di dalam cairan tubuh atau napas, yang dapat mengakibatkan perubahan perilaku (menurunnya kemampuan mengendarai kendaraan bermotor di jalan raya, tindak kekerasan dan kejahatan, penggunaan dooping),
- analisis obat terlarang di darah dan urin pada kasus penyalahgunaan narkotika, psikotropika dan obat terlarang lainnya.

Tujuan lain dari analisis toksikologi forensik adalah membuat suatu rekaan rekonstruksi suatu peristiwa yang terjadi, sampai sejauh mana obat atau racun tersebut dapat mengakibatkan perubahan perilaku (menurunnya kemampuan mengendarai, yang dapat mengakibatkan kecelakaan yang fatal, atau tindak kekerasan dan kejahatan). Berikut ini adalah gambaran kasus-kasus yang umumnya di negara maju memerlukan pemeriksaan toksikologi forensik, meliputi tiga kelompok besar yaitu:

- a) kematian akibat keracunan, yang meliputi: kematian mendadak, kematian di penjara, kematian pada kebakaran, dan kematian medis yang disebabkan oleh efek samping obat atau kesalahan penanganan medis,
- b) kecelakaan fatal maupun tidak fatal, yang dapat mengancam keselamatan nyawa sendiri ataupun orang lain, yang umumnya diakibatkan oleh pengaruh obat-obatan, alkohol, atau pun narkoba,
- c) penyalahgunaan narkoba dan kasus-kasus keracunan yang terkait dengan akibat pemakaian obat, makanan, kosmetika, alat kesehatan, dan bahan berbahaya kimia lainnya, yang tidak memenuhi standar kesehatan (kasus-kasus forensik farmasi).

2. Langkah-langkah analisis toksikologi forensik

Secara umum tugas analisis toksikologi forensik (klinik) dalam melakukan analisis dapat dikelompokkan ke dalam tiga tahap yaitu: 1) penyiapan sampel "*sample preparation*", 2) analisis meliputi uji penapisan "*screening test*" atau dikenal juga dengan "*general unknown test*" dan uji konfirmasi yang meliputi uji identifikasi dan kuantifikasi, 3) langkah terakhir adalah interpretasi temuan analisis dan penulisan laporan analisis.

Berbeda dengan kimia analisis lainnya (seperti: analisis senyawa obat dan makanan, analisis kimia klinis) pada analisis toksikologi forensik pada umumnya analit (racun) yang menjadi target analisis, tidak diketahui dengan pasti sebelum dilakukan analisis. Tidak sering hal ini menjadi hambatan dalam penyelenggaraan analisis toksikologi forensik, karena seperti diketahui saat ini terdapat ribuan atau bahkan jutaan senyawa kimia yang mungkin menjadi target analisis. Untuk mempersempit peluang dari target analisis, biasanya target dapat digali dari informasi penyebab kasus forensik (keracunan, kematian tidak wajar akibat keracunan, tindak kekerasan dibawah pengaruh obat-obatan), yang dapat diperoleh dari laporan pemeriksaan di tempat kejadian perkara (TKP), atau dari berita acara penyidikan oleh polisi penyidik.

Sangat sering dalam analisis toksikologi forensik tidak diketemukan senyawa induk, melainkan metabolitnya. Sehingga dalam melakukan analisis toksikologi forensik, senyawa matabolit juga merupakan target analisis.

Sampel dari toksikologi forensik pada umumnya adalah spesimen biologi seperti: cairan biologis (darah, urin, air ludah), jaringan biologis atau organ tubuh. Preparasi sampel adalah salah satu faktor penentu keberhasilan analisis toksikologi forensik disamping keahlihan penguasaan metode analisis instrumentasi. Berbeda dengan analisis kimia lainnya, hasil indentifikasi dan kuantifikasi dari analit bukan merupakan tujuan akhir dari analisis toksikologi forensik. Seorang toksikolog forensik dituntut harus mampu menerjemahkan apakah analit (toksikan) yang diketemukan dengan kadar tertentu dapat dikatakan sebagai penyebab keracunan (pada kasus kematian).

2.1. Penyiapan Sampel

Spesimen untuk analisis toksikologi forensik biasanya diterok oleh dokter, misalnya pada kasus kematian tidak wajar spesimen dikumpulkan oleh dokter forensik pada saat melakukan otopsi. Spesimen dapat berupa cairan biologis, jaringan,

organ tubuh. Dalam pengumpulan spesimen dokter forensik memberikan label pada masing-masing bungkus/wadah dan menyegelnya. Label seharusnya dilengkapi dengan informasi: nomer identitas, nama korban, tanggal/waktu otopsi, nama spesimen beserta jumlahnya. Pengiriman dan penyerahan spesimen harus dilengkapi dengan surat berita acara penyerahan spesimen, yang ditandatangani oleh dokter forensik. Toksikolog forensik yang menerima spesimen kemudian memberikan dokter forensik surat tanda terima, kemudian menyimpan sampel/spesimen dalam lemari pendingin “freezer” dan menguncinya sampai analisis dilakukan. Prosedur ini dilakukan bertujuan untuk memberikan rantai perlindungan/pengamanan spesimen (*chain of custody*).

Beberapa hal yang perlu diperhitungkan dalam tahapan penyiapan sampel adalah: jenis dan sifat biologis spesimen, fisikokimia dari spesimen, serta tujuan analisis. Dengan demikian akan dapat merancang atau memilih metode penanganan sampel, jumlah sampel yang akan digunakan, serta memilih metode analisis yang tepat. Penanganan sampel perlu mendapat perhatian khusus, karena sebagian besar sampel adalah materi biologis, sehingga sedapat mungkin mencegah terjadinya penguraian dari analit.

Pemilihan metode ekstraksi ditentukan juga oleh analisis yang akan dilakukan, misal pada uji penapisan sering dilakukan ekstraksi satu tahap, dimana pada tahap ini diharapkan semua analit dapat terekstraksi. Bahkan pada uji penapisan menggunakan teknik “*immunoassay*” sampel tidak perlu diekstraksi dengan pelarut tertentu.

Sampel urin pada umumnya dapat langsung dilakukan uji penapisan dengan menggunakan teknik *immunoassay*. Namun tidak jarang harus mendapatkan perlakuan awal, seperti pengaturan pH dan sentrifuga, guna menghilangkan kekeruhan. Pemisahan sel darah dan serum sangat diperlukan pada persiapan sebelum dilakukan uji penapisan pada darah. Serum pada umumnya dapat langsung dilakukan uji penapisan menggunakan teknik *immunoassay*. Tidak jarang sampel darah, yang diterima sudah mengalami hemolisis atau menggumpal, dalam hal ini darah dilarutkan dengan metanol, dan kemudian disentrifuga, supernatannya dapat langsung dilakukan uji penapisan menggunakan teknik *immunoassay*.

Ekstraksi satu tahap sangat diperlukan apabila uji penapisan tidak menggunakan teknik *immunoassay*, misal menggunakan kromatografi lapis tipis dengan reaksi penampak bercak tertentu. Atau juga ekstraksi bertingkat “*metode Stas-Otto*

Gang” untuk melakukan pemisahan analit berdasarkan sifat asam-basanya.

Metode ekstraksi dapat berupa ekstraksi cair-cair, menggunakan dua pelarut yang terpisah, atau ekstraksi cair-padat. Prinsip dasar dari pemisahan ekstraksi cair-cair berdasarkan koefisien partisi dari analit pada kedua pelarut atau berdasarkan kelarutan analit pada kedua pelarut tersebut. Pada ekstraksi cair-padat analit dilewatkan pada kolom yang berisi adsorben fase padat (SPE, Si-Gel C-18, Extrelut®, Bund Elut Certify®, dll), kemudian dielusi dengan pelarut tertentu, biasanya diikuti dengan modifikasi pH pelarut.

Penyiapan sampel yang baik sangat diperlukan pada uji pemastian “identifikasi dan kuantifikasi”, terutama pada teknik kromatografi. Karena pada umumnya materi biologik merupakan materi yang kompleks, yang terdiri dari berbagai campuran baik senyawa endogen maupun senyawa eksogen “xenobiotika”. Penyiapan sampel umumnya meliputi hidrolisis, ekstraksi, dan pemurnian analit. Prosedur ini haruslah mempunyai efisiensi dan selektifitas yang tinggi. Perolehan kembali yang tinggi pada ekstraksi adalah sangat penting untuk menyari semua analit, sedangkan selektifitas yang tinggi diperlukan untuk menjamin pengotor atau senyawa pengganggu terpisahkan dari analit.

Pada analisis menggunakan GC/MS, penyiapan sampel termasuk derivatisasi analit secara kimia, seperti salilisasi, metilisasi, dll. Derivatisasi ini pada umumnya bertujuan untuk meningkatkan volatilitas analit atau meningkatkan kepekaan analisis.

2.2. Uji Penapisan “Screening test”

Uji penapisan untuk menapis dan mengenali golongan senyawa (analit) dalam sampel. Disini analit digolongkan berdasarkan baik sifat fisikokimia, sifat kimia maupun efek farmakologi yang ditimbulkan. Obat narkotika dan psikotropika secara umum dalam uji penapisan dikelompokkan menjadi golongan opiat, kokain, kannabinoid, turunan amfetamin, turunan benzodiazepin, golongan senyawa anti dipresan tri-siklik, turunan asam barbiturat, turunan metadon. Pengelompokan ini berdasarkan struktur inti molekulnya. Sebagai contoh, disini diambil senyawa golongan opiat, dimana senyawa ini memiliki struktur dasar morfin, beberapa senyawa yang memiliki struktur dasar morfin seperti, heroin, mono-asetil morfin, morfin, morfin-3-glukuronida, morfin-6-glukuronida, asetilkodein, kodein, kodein-6-glukuronida, dihidrokodein serta metabolitnya, serta senyawa turunan opiat lainnya yang mempunyai inti morfin.

Uji penapisan seharusnya dapat mengidentifikasi golongan analit dengan derajat reabilitas dan sensitifitas yang tinggi, relatif murah dan pelaksanaannya relatif cepat. Terdapat teknik uji penapisan yaitu: a) kromatografi lapis tipis (KLT) yang dikombinasikan dengan reaksi warna, b) teknik *immunoassay*. Teknik *immunoassay* umumnya memiliki sifat reabilitas dan sensitifitas yang tinggi, serta dalam pengerjaannya memerlukan waktu yang relatif singkat, namun alat dan bahan dari teknik ini semuanya harus diimpor, sehingga teknik ini menjadi relatif tidak murah. Dibandingkan dengan *immunoassay*, KLT relatif lebih murah, namun dalam pengerjaannya memerlukan waktu yang relatif lebih lama.

a) teknik *immunoassay*

Teknik *immunoassay* adalah teknik yang sangat umum digunakan dalam analisis obat terlarang dalam materi biologi. Teknik ini menggunakan “*anti-drug antibody*” untuk mengidentifikasi obat dan metabolitnya di dalam sampel (materi biologik). Jika di dalam matrik terdapat obat dan metabolitnya (antigen-target) maka dia akan berikatan dengan “*anti-drug antibody*”, namun jika tidak ada antigen-target maka “*anti-drug antibody*” akan berikatan dengan “antigen-penanda”. Terdapat berbagai metode / teknik untuk mendeteksi ikatan antigen-antibodi ini, seperti “*enzyme linked immunoassay*” (ELISA), *enzyme multiplied immunoassay technique* (EMIT), *fluorescence polarization immunoassay* (FPIA), *cloned enzyme-donor immunoassay* (CEDIA), dan *radio immunoassay* (RIA).

Pemilihan teknik ini sangat tergantung pada beban kerja (jumlah sampel per-hari) yang ditangani oleh laboratorium toksikologi. Misal dipasaran teknik ELISA atau EMIT terdapat dalam bentuk *single test* maupun multi test. Untuk laboratorium toksikologi dengan beban kerja yang kecil pemilihan teknik *single test immunoassay* akan lebih tepat ketimbang teknik multi test, namun biaya analisa akan menjadi lebih mahal.

Hasil dari *immunoassay* test ini dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan, bukan untuk menarik kesimpulan, karena kemungkinan antibodi yang digunakan dapat bereaksi dengan berbagai senyawa yang memiliki baik bentuk struktur molekul maupun bangun yang hampir sama. Reaksi silang ini tentunya memberikan hasil positif palsu. Obat batuk yang mengandung pseudoefedrin akan memberi reaksi positif palsu terhadap test *immunoassay* dari anti bodi- metamfetamin. Oleh sebab itu hasil reaksi *immunoassay* (screening test) harus dilakukan uji pemastian (*confirmatori test*).

b) kromatografi lapis tipis (KLT)

KLT adalah metode analitik yang relatif murah dan mudah pengerjaannya, namun KLT kurang sensitif jika dibandingkan dengan teknik *immunoassay*. Untuk meningkatkan sensitifitas KLT sangat disarankan dalam analisis toksikologi forensik, uji penapisan dengan KLT dilakukan paling sedikit lebih dari satu sistem pengembang dengan penampak noda yang berbeda. Dengan menggunakan spektrofotodensitometri analit yang telah terpisah dengan KLT dapat dideteksi spektrumnya (UV atau fluoresensi). Kombinasi ini tentunya akan meningkatkan derajat sensitifitas dan spesifisitas dari uji penapisan dengan metode KLT. Secara simultan kombinasi ini dapat digunakan untuk uji pemastian.

2.3. Uji pemastian “*confirmatory test*”

Uji ini bertujuan untuk memastikan identitas analit dan menetapkan kadarnya. Konfirmatori test paling sedikit sesensitif dengan uji penapisan, namun harus lebih spesifik. Umumnya uji pemastian menggunakan teknik kromatografi yang dikombinasi dengan teknik detektor lainnya, seperti: kromatografi gas - spektrofotometri massa (GC-MS), kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) dengan diode-array detektor, kromatografi cair - spektrofotometri massa (LC-MS), KLT-Spektrofotodensitometri, dan teknik lainnya. Meningkatnya derajat spesifisitas pada uji ini akan sangat memungkinkan mengenali identitas analit, sehingga dapat menentukan secara spesifik toksikan yang ada.

Prinsip dasar uji konfirmasi dengan menggunakan teknik GC-MS adalah analit dipisahkan menggunakan gas kromatografi kemudian selanjutnya dipastikan identitasnya menggunakan teknik spektrofotometrimassa. Sebelumnya analit diisolasi dari matrik biologik, kemudian jika perlu diderivatisasi. Isolat akan dilewatkan ke kolom GC, dengan perbedaan sifat fisikokimia toksikan dan metabolitnya, maka dengan GC akan terjadi pemisahan toksikan dari senyawa segolongannya atau metabolitnya. Pada prinsipnya pemisahan menggunakan GC, indeks retensi dari analit yang terpisah adalah sangat spesifik untuk senyawa tersebut, namun hal ini belum cukup untuk tujuan analisis toksikologi forensik. Analit yang terpisah akan memasuki spektrofotometri massa (MS), di sini bergantung dari metode fragmentasi pada MS, analit akan terfragmentasi menghasilkan pola spektrum massa yang sangat karakteristik untuk setiap senyawa. Pola fragmentasi (spektrum massa) ini merupakan sidik jari molekular dari suatu senyawa.

Dengan memadukan data indeks retensi dan spektrum massanya, maka identitas dari analit dapat dikenali dan dipastikan.

Dengan teknik kombinasi HPLC-diode array detektor akan memungkinkan secara simultan mengukur spektrum UV-Vis dari analit yang telah dipisahkan oleh kolom HPLC. Seperti pada metode GC-MS, dengan memadukan data indeks retensi dan spektrum UV-Vis analit, maka dapat mengenali identitas analit.

Disamping melakukan uji indentifikasi potensial positif analit (hasil uji penapisan), pada uji ini juga dilakukan penetapan kadar dari analit. Data analisis kuantitatif analit akan sangat berguna bagi toksikolog forensik dalam menginterpretasikan hasil analisis, dengan kaitannya dalam menjawab pertanyaan-pertanyaan yang muncul baik dari penyidik maupun hakim sehubungan dengan kasus yang terkait. Misal analisis toksikologi forensik ditegakkan bertujuan untuk memastikan dugaan kasus kematian akibat keracunan atau diracuni, pertanyaan-pertanyaan yang mungkin muncul pada kasus ini adalah:

- senyawa racun apa yang terlibat?
- berapa besar dosis yang digunakan?
- kapan paparan tersebut terjadi (kapan racun tersebut mulai kontak dengan korban)?
- melalui jalur apa paparan tersebut terjadi (jalur oral, injeksi, inhalasi)?

Dalam praktis analisis menggunakan teknik GC-MS, LC-MS, atau HPLC-Diode array detektor memerlukan biaya analisis yang relatif mahal ketimbang KLT-Spektrofotodensitometri. Sehingga disarankan dalam perencanaan pengadaan/pemilihan peralatan suatu laboratorium toksikologi seharusnya mempertimbangkan biaya operasional penanganan sampel. Hal ini pada kenyataannya sering menjadi faktor penghambat dalam penyelenggaraan laboratorium toksikologi. Karena pada kenyataannya telah diatur dalam KUHAP, bahwa biaya yang ditimbulkan akibat pemeriksaan atau penyidikan dibebankan pada negara, namun pada kenyataannya sampai saat negara belum mampu memikul beban tersebut.

2.4. Interpretasi temuan analisis

Temuan analisis sendiri tidak mempunyai makna yang berarti jika tidak dijelaskan makna dari temuan tersebut. Seorang toksikolog forensik berkewajiban menerjemahkan temuan tersebut berdasarkan kepakarannya ke dalam suatu kalimat atau laporan,

yang dapat menjelaskan atau mampu menjawab pertanyaan yang muncul berkaitan dengan permasalahan/kasus yang dituduhkan.

Berkaitan dengan analisis penyalahgunaan obat-obatan terlarang, mengacu pada hukum yang berlaku di Indonesia (UU no 5 th 1997 tentang spikotropika dan UU no 22 th 1997 tentang Narkotika), interpretasi temuan analisis oleh seorang toksikolog forensik adalah merupakan suatu keharusan (Wirasuta, 2005). Heroin menurut UU no 22 tahun 1997 termasuk narkotika golongan I, namun metabolitnya (morfin) masuk ke dalam narkotika golongan II. Dilain hal kodein (narkotika golongan III) di dalam tubuh akan sebagian termetabolisme menjadi morfin. Namun pada kenyataannya heroin ilegal juga mengandung acetilkodein, yang merupakan hasil asetilasi dari kodein, sehingga dalam analisis toksikologi forensik pada pembuktian kasus penyalahgunaan heroin ilegal akan mungkin ditemukan morfin dan kodein. Menurut UU narkotika ini (pasal 84 dan 85), menyatakan bahwa penyalahgunaan narkotika golongan I, II, dan III memiliki konsekuensi hukum yang berbeda, sehingga interpretasi temuan analisis toksikologi forensik, khususnya dalam kaitan menjawab pertanyaan narkotika apa yang telah dikonsumsi, adalah sangat mutlak dalam penegakan hukum.

Terdapat beberapa pertanyaan yang harus dijawab oleh toksikolog forensik dalam melakukan analisis:

- a. Senyawa apa yang terlibat dalam tindak kriminal tersebut (senyawa apa yang menyebabkan keracunan, menurunnya kemampuan mengendarai kendaraan dalam berlalulintas, atau narkoba apa yang telah disalah gunakan)?
- b. Berapa besar dosisnya?
- c. Efek apa yang ditimbulkan?
- d. Kapan tubuh korban terpapar oleh senyawa tersebut?
- e. Pertanyaan-pertanyaan tersebut dapat terungkap dari hasil analisis toksikologi dan didukung oleh penguasaan ilmu pendukung lainnya seperti farmakologi dan toksikologi, biotransformasi, dan farmakokinetik.

Data temuan hasil uji penapisan dapat dijadikan petunjuk bukan untuk menarik kesimpulan bahwa seseorang telah terpapar atau menggunakan obat terlarang. Sedangkan hasil uji pemastian (confirmatory test) dapat dijadikan dasar untuk memastikan atau menarik kesimpulan apakah seseorang telah menggunakan obat terlarang yang dituduhkan. Pernyataan ini terdengar sangatlah

mudah, namun pada praktisnya banyak faktor yang mempengaruhi.

Untuk lebih jelasnya disini akan diberikan suatu perumpamaan kasus, misal dari hasil uji penapisan menggunakan teknik *immunoassay* diperoleh dalam sampel darah dan urin tertuduh memberikan reaksi positif terhadap golongan opiat. Hasil ini tidak cukup untuk membuktikan (menuduh) terdakwa telah mengkonsumsi obat terlarang narkotika golongan opiat, karena obat batuk *dentromertofan* mungkin memberikan reaksi positif. Dilain hal senyawa golongan opiat terdistribusi ke dalam golongan narkotika I sampai III, dimana menurut UU Narkotika, penyalahgunaan golongan tersebut memiliki konsekuensi hukum yang berbeda. Metabolit glukuronida dari morfin dan kodein tidak dimasukkan ke dalam senyawa narkotika. Kenyataan ini akan membuat interpretasi toksikologi forensik, yang hanya berdasarkan data hasil analisis uji penapisan, menjadi lebih kompleks.

Dilain hal banyak senyawa obat, dimana metabolitnya memungkinkan memberi reaksi positif (reaksi silang) terhadap test anti-amfetamin-antibodi. Senyawa obat tersebut antara lain: a) golongan obat bebas yang digunakan sebagai dekongestan dan anoreksia, seperti: efedrin, pseudoefedrin dan fenilpropanolamin; b) golongan keras (dengan resep): benzofetamin, fenfluramine, mefentermin, fenmeterzine, dan fentermine; c) obat / senyawa obat, dimana amfetamin atau metamfetamin sebagai metabolitnya, seperti: etilamfetamin, clobenzorex, mefenorex, dimetilamfetamin, dll (United Nation, 1995).

Pada interpretasi hasil analisis pada kasus kematian, seorang toksikolog forensik dituntut mampu menjawab pertanyaan spesifik seperti: rute pemakaian toksikan, apakah konsentrasi toksikan yang ditetapkan cukup sebagai menyebabkan kematian atau penyebab keracunan. Penetapan rute pemakaian biasanya diperoleh dari analisis berbagai spesimen, dimana pada umumnya konsentrasi toksikan yang lebih tinggi ditemukan di daerah rute pemakaian. Jika ditemukan toksikan dalam jumlah besar di saluran pencernaan dan hati, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa paparan melalui jalur oral. Demikian juga apabila konsentrasi yang tinggi ditemukan di paru-paru atau pada organ viseral lainnya mengindikasikan paparan melalui inhalasi. Bekas suntikan yang baru pada permukaan tubuh (seperti telapak tangan, lengan, dll), yang ditemukan pada kasus kematian akibat penyalahgunaan

narkotika, merupakan petunjuk paparan melalui injeksi.

Ditemukannya toksikan dalam konsentrasi yang cukup tinggi baik di saluran pencernaan maupun di darah, dapat dijadikan cukup bukti untuk menyatakan toksikan tersebut sebagai penyebab kematian. Seorang toksikolog forensik dituntut juga dapat menerangkan absorpsi toksikan dan transportasi/distribusi melalui sirkulasi sistemik menuju organ-jaringan sampai dapat menimbulkan efek yang fatal. Interpretasi ini diturunkan dari data konsentrasi toksikan baik di darah maupun di jaringan-jaringan.

Hasil analisis urin biasanya kurang berarti dalam menentukan efek toksik/psikologi dari suatu toksikan. Secara umum hasil analisis urin menyatakan adanya paparan toksikan sebelum kematian. Dari jumlah volume urin dan konstelasi jumlah toksikan dan metabolitnya di dalam kantung kemih, dengan berdasarkan data laju ekskresi toksikan dan metabolitnya, maka dimungkinkan untuk menurunkan informasi lamanya waktu paparan telah terjadi sebelum kematian (Wirasuta 2004).

Kebanyakan efek farmakologik/psikologi xenobiotika berhubungan dengan tingkat konsentrasinya di darah dan tempat kerjanya (reseptor). Oleh sebab itu tingkat konsentrasi di darah adalah sebagai indikator penting dalam mencari faktor penyebab kematian/keracunan. Dalam menginterpretasikan tingkat konsentrasi di dalam darah dan jaringan sebaiknya memperhatikan tingkat efek spikologis yang sebenarnya dan semua faktor yang berpengaruh dari setiap tingkat konsentrasi yang diperoleh dari spesimen. Interpretasi tingkat konsentrasi dalam darah dan jaringan dapat dibagi menjadi tiga katagori: normal atau terapeutik, toksik, dan lethal. Tingkat konsentrasi normal dinyatakan sebagai keadaan, dimana tidak menimbulkan efek toksik pada organisme. Tingkat konsentrasi toksik berhubungan dengan gejala membahayakan nyawa, seperti: koma, kejang-kejang, kerusakan hati atau ginjal. Tingkat konsentrasi kematian dinyatakan sebagai konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian. Contoh: sianida pada konsentrasi yang tinggi (0,17-2,22 mg/l, ditemukan pada kematian akibat keracunan sianida), dinyatakan sebagai penyebab keracunan. Sedangkan pada konsentrasi yang sangat kecil (0,004 mg/l pada orang sehat dan 0,006 mg/l pada perokok), sianida berperan dalam pembentukan vitamin B12. Dalam jumlah kecil sianida juga diabsorpsi dan dibangkitkan selama merokok. Oleh sebab itu

mendeteksi sianida di darah pada tingkat dibawah konsentrasi toksik, masih dapat ditolerir sebagai tanpa efek toksik. Beberapa logam berat, seperti arsen, timbal, dan merkuri tidak diperlukan untuk fungsi normal tubuh. Keberadaan logam tersebut dibawah tingkat konsentrasi toksik mengindikasikan bahwa korban telah terpapar logam berat akibat polusi lingkungan.

Faktor-faktor yang mempengaruhi respon individu terhadap tingkat konsentrasi toksik (seperti: usia, jenis kelamin/status hormonal, berat badan, status nutrisi, genetik, status imunologi, kelainan patologik dan penyakit bawaan, kelainan fungsi organ, sifat farmakokinetik dari toksikan) seharusnya juga dipertimbangkan dalam menginterpretasikan hasil analisis, yang bertujuan mencari faktor penyebab keracunan. Faktor lain yang juga harus mendapat perhatian adalah fenomena farmakologi seperti toleransi. Toleransi adalah suatu keadaan menurunnya respon tubuh terhadap toksikan sebagai hasil paparan yang berulang sebelumnya, biasanya dalam waktu yang lama. Penurunan respon dapat diakibatkan oleh adaptasi selular pada suatu konsentrasi toksikan, yang dapat berakibat pada penekanan efek farmakologis yang diinginkan. Hal ini sering dijumpai pada kasus kematian akibat menyalahgunaan heroin, dimana ditemukan tumpang tindih rentang konsentrasi morfin di darah pada kasus “*lethal related heroine* (0,010 - 2,200 µg/ml, rata-rata: 0,277 µg/ml)” dan “*non-lethal related heroine* (0,010 -0,275 µg/ml, rata-rata: 0,046 µg/ml)” (Wirasuta 2004). Konsentrasi morfin yang tinggi mungkin tidak mengakibatkan efek toksik pada *junkies* yang telah berulang memakai heroin, sedangkan pada konsentrasi yang sama mungkin menimbulkan efek kematian pada orang yang baru menggunakan. Bahaya kematian sering dijumpai pada pemakaian dosis tinggi oleh pencadu, yang memulai kembali menggunakan heroin setelah lama berhenti menggunakannya, dimana dosisnya didasarkan pengalaman pribadi saat efek toleransi masih timbul.

Melalui pengamatan ulang riwayat kasus, memperhatikan semua faktor toksokinetik, toksodinamik, dan dengan membandingkan hasil analisis dengan laporan kasus yang sama dari beberapa pustaka atau pengalaman sendiri, seorang ahli toksikologi membuat interpretasi akhir dari suatu kasus.

Contoh-contoh di atas dengan jelas memaparkan, bahwa hasil reaksi positif dengan teknik immunoassay belum cukup bukti untuk memastikan/menuduh seseorang telah

mengonsumsi obat terlarang. Lebih lanjut berikut ini diberikan ilustrasi kasus dan interpretasi dari hasil analisis toksikologi forensik yang lengkap:

Contoh: Ilustrasi kasus toksikologi forensik (*data dikutip dari kasus yang masuk ke Institut of Legal Medicine of Goerg August University, Göttingen, Germany*):

Berdasarkan Berita Acara Pemeriksaan dari penyidik dilaporkan telah ditemukan mayat di kamar mandi sebuah cafe. Dilengan kanannya masih tertancap jarum suntik. Hasil otopsi melaporkan terdapat baik bekas suntikan yang masih baru maupun yang sudah menua dilengan kanan dan kiri, telapak tangan, kaki. Terdapat edema paru-paru, dan bau aromatis dari organ tubuh seperti saluran cerna. Dokter spesialis Forensik menyimpulkan kematian diduga diakibatkan oleh keracunan obat-obatan.

Hasil analisis toksikologi forensik:

Uji skrining menggunakan teknik immunoassay test (EMIT) terdeteksi positif golongan opiat dan benzodiazepin. Dari penetapan kadar alkohol di darah dan urin terdapat alkohol 0,1 promil dan 0,1 promil.

Pada uji konfirmasi dengan menggunakan alat GC-MS diperoleh hasil:

- darah sebelum di hidrolisis: - morfin: 0,200 µg/ml, - kodein: 0,026 µg/ml
- darah setelah hidrolisis: - morfin: 0,665 µg/ml, - kodein: 0,044 µg/ml
- urin sebelum hidrolisis: - 6-asetilmorfin: 0,060 µg/ml, - morfin: 0,170 µg/ml, - kodein: 0,040 µg/ml
- urin setelah hidrolisis: - morfin: 0,800 µg/ml, - kodein: 0,170 µg/ml

Golongan benzodiazepin yang terdeteksi di darah adalah:

- diazepam: 1,400 µg/ml; nordazepam: 0,086 µg/ml; oxazepam: 0,730 µg/ml; temazepam: 0,460 µg/ml*

Dalam menginterpretasikan hasil temuannya seorang toksikolog forensik harus mengulas kembali efek toksik dan farmakologi yang ditimbulkan oleh analit, baik efek tunggal dari opiate dan benzodiazepin maupun efek kombinasi yang ditimbulkan dalam pemakaian bersama antara opiat dan benzodiazepin. Menyacu informasi konsentrasi toksik (“*lethal concentration*”) dapat diduga penyebab kematian dari korban.

Efek toksik yang ditimbulkan oleh pemakaian heroin adalah dipresi saluran pernafasan. Keracunan oleh heroin ditandai dengan adanya udem paru-paru. Sedangkan pemakaian diazepam secara bersamaan akan meningkatkan efek heroin dalam penekanan sistem pernafasan. Hal ini akan mempercepat kematian.

Guna mengetahui obat apa yang telah dikonsumsi oleh korban, berdasarkan hasil analisis dan alur metabolisme dari suatu senyawa obat, seorang toksikolog forensik akan merunut balik apa yang telah dikonsumsi korban.

Di darah dan urin terdapat morfin dan kodein baik dalam bentuk bebas maupun terikat dengan glukuronidnya namun di urin terdeteksi juga 6-asetilmorfin. Heroin di dalam tubuh dalam waktu yang sangat singkat akan termetabolisme menjadi 6-asetilmorfin, dan kemudian membentuk morfin. Morfin akan terkonjugasi menjadi morfin-glukuronidanya. Dari hasil analisis seorang toksikolog forensik sudah dapat menyimpulkan bahwa korban telah mengkonsumsi heroin.

Di dalam tubuh diazepam akan termetabolisme melalui N-demetilasi membentuk desmetildiazepam (nordazepam) dan kemudian akan terhidrolisis membentuk oksazepam, sebagian kecil akan termetabolisme membentuk temazepam. Sehingga dari temuan analisis dapat disimpulkan korban juga telah mengkonsumsi diazepam.

Berdasarkan data farmakokinetik dari heroin serta metabolitnya dan juga konstelasi dari konsentrasi morfin bebas dan terikatnya dapat diambil dugaan kematian terjadi lebih kurang dari satu sampai dua jam setelah pemakaian heroin (perkiraan ini didasarkan atas model farmakokinetik dari Wirasuta 2004).

Semua temuan dan hasil interpretasi ini dibuat dalam suatu laporan (berita acara pemeriksaan) yang akan diserahkan kembali ke polisi penyidik. Berkas berita acara pemeriksaan ini dikenal dengan keterangan ahli.

Interpretasi akan menjadi benar secara ilmiah apabila didasarkan pada data analisis yang valid, dan harus didukung oleh pemahaman ilmu toksikologi-farmakologi, farmakokinetik, biotransformasi yang baik. Untuk mendapatkan data analisis yang valid/sahih, harus dilakukan validasi terhadap semua prosedur analisis dan mengevaluasi sumber-sumber yang mungkin memberikan kesalahan analisis. Mengevaluasi/menganalisis

validasi dari hasil analisis dapat ditinjau dari tiga tingkat faktor utama yang menentukan hasil analisis (DFG, 1990, 1995), yaitu:

- 1) Tataran teknis analisis yang menghasilkan data analisis. Dalam tataran ini kesalahan dapat diakibatkan oleh faktor metode analisis. Untuk mendapatkan data analisis yang valid, perlu dilakukan validasi prosedur analisis, sesuai dengan ketentuan yang diatur secara internasional (misal mengikuti ketentuan validasi prosedur analisis yang dimuat dalam Farmakope International, USP, AOAC, dll).
- 2) Tataran biologis, variansi matrik biologis dari sampel memungkinkan ikut memberikan sumbangan kesalahan terhadap hasil analisis. Terdapat tiga langkah yang dapat dilakukan dalam mengevaluasi data analisis dari sudut pandang tataran biologis, yaitu: kontrol plausibilitas, evaluasi longitudinal dan transversal.

Kontrol plausibilitas mencakup:

- Kontrol data ekstrim, data ini dikontrol berdasarkan data medikal misalnya data analisis tidak sesuai dengan data yang telah diperoleh dari populasi manusia atau sangat jauh menyimpang secara statistik.
- Kontrol konstelasi yaitu membandingkan dari berbagai data analisis, yang diperoleh dari matrik biologis yang berbeda tetapi seri data tersebut masih memiliki parameter yang saling bergantung. Misal membandingkan data analisis toksikan dan metabolitnya di darah dan di urin, konstelasi data yang ditimbulkan dikontrol berdasarkan sifat farmakokinetik dari toksikan dan metabolitnya.
- Kontrol trend data: data analisis yang diperoleh dari satu pasien (korban) dievaluasi terhadap perubahan waktu, hal ini bertujuan untuk mengetahui sifat perubahan biologis (misal: laju eliminasi) yang terjadi pada pasien tersebut.

Tujuan dari kontrol plausibilitas adalah untuk mencari kesalahan analisis, dimana dari tataran teknik analitik tidak teridentifikasi, sehingga diharapkan diperolehnya data analisis yang sah.

Analisis longitudinal, evaluasi ini didasarkan terhadap sifat farmakokinetik (toksikinetik) dan reaksi biotransformasi dari toksikan dan metabolitnya. Data analisis (toksikan dan metabolitnya) dari pasien yang sama, yang diperoleh dari selang waktu pengambilan sampel (penerokan) yang berbeda dibandingkan

satu sama lainnya. Dari hasil perbandingan data analisis tersebut, dengan didasarkan sifat farmakokinetik, maka dapat dijadikan dasar untuk menduga/mengontrol konsentrasi aktual (waktu terjadinya keracunan). Lebih lanjut data ini dapat dijadikan dasar untuk memperkirakan waktu terjadinya eksposisi.

Analisis transversal, data analisis yang diperoleh dari satu pasien dibandingkan dengan kelompok kontrol. Data dari kelompok kontrol mungkin dapat berupa data konsentrasi toksikan/obat, yang diambil dari interval waktu tertentu, seperti interval waktu konsentrasi efek terapeutik, interval konsentrasi toksik atau "lethal dosis".

- 3) Tataran nosologi (ilmu pengelompokan penyakit), kesalahan dapat ditimbulkan akibat kesalahan dalam mendiagnose keracunan atau mungkin muncul akibat kesalahan menginterpretasikan temuan patologis atau psikologis pasien (korban). Kesalahan ini mungkin muncul karena keracunan dapat menampakkan kelainan patologis.

3. Daftar Pustaka

1. DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), (1990), *Orientierende Angaben zu therapeutischen und toxischen Konzentrationen von Arzneimitteln und Giften in Blut, Serum, oder Urin*, VCH Verlag, Weinheim.
2. DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), (1995), *Einfache toxikologische Laboratoriumsuntersuchungen bei akuten Vergiftungen*, VCH Verlag, Weinheim.
3. Eckert, W.G., 1980, *Introduction to Forensic sciences*, The C.V. Mosby Company, St. Louis, Missouri
4. Kerrigan, S, (2004), *Drug Toxicology for Prosecutors Targeting Hardcore Impaired Drivers*, New Mexico Department of Health Scientific Laboratory Division Toxicology Bureau, New Mexico.
5. Madea, B. und Brinkmann B., *Handbuch gerichtliche Medizin*, Band 2., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
6. Moffat, Ac., Jackson, J.V., Moss, M.S. and Widdop, B., 1986, *Clark's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids, and post-mortem material*, 2nd Ed. The Pharmaceutical Press, London
7. Mueller B., 1975, *Gerichtliche Medizin*, Springer-Verlag, Berlin
8. Saferstein R., 1995, *Criminalistics, an Introduction to Forensic Science*, 5th Ed., A Simon & Schuster Co., Englewood Cliffs, New Jersey.
9. SOFT (Society of Forensic Toxicologist, Inc.) and AAFS (the American Academy of Forensic Sciences, Toxicology Section), (2002), *Forensic Toxicology Laboratory Guidelines*, SOFT / AAFS.
10. United Nations, (1995) *Recommended methods for the detection and assay of heroin, cannabinoids, cocaine, amphetamine and ring-substituted amphetamine derivatives in biological specimens manual for use by national laboratories*, United Nation International Drug Control Programme, New York
11. Wirasuta I M.A.G. (2004), *Untersuchung zur Metabolisierung und Ausscheidung von Heroin im menschlichen Körper. Ein Beitrag zur Verbesserung der Opiatbefundinterpretation*, Cuvillier Verlag, Göttingen.
12. Wirasuta, I M.A.G., (2005), *Hambatan dalam penegakan Undang-Undang No 22 th 1997 tentang Narkotika, khususnya pada penyalahgunaan narkotika golongan opiat ditinjau dari sifat farmakokinetiknya*, dalam Wirasuta, I M.A.G., et al. (Ed.) (2005), *Peran kedokteran forensik dalam penegakan hukum di Indonesia. Tantangan dan tuntutan di masa depan*, Penerbit Udayana, Denpasar
13. Wirasuta, I M.A.G., (2005), *Peran Toksikologi forensik dalam penegakan hukum kesehatan di Indonesia*, dalam Wirasuta, I M.A.G., et al. (Ed.) (2005), *Peran kedokteran forensik dalam penegakan hukum di Indonesia. Tantangan dan tuntutan di masa depan*, Penerbit Udayana, Denpasar